

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2014.30.002

人参皂甙 Rd 预处理可减轻谷氨酸所致的 PC12 细胞损伤 *

李楠 史永强 高璐 张刚 米伟阳 史航宇[△]

(西安市儿童医院神经外科 陕西 西安 710003)

摘要 目的:研究人参皂甙 Rd(Ginsenoside Rd)预处理对谷氨酸所致 PC12 细胞损伤的影响。方法:将体外培养的 PC12 细胞分为 3 组,分别为对照组(Control)、谷氨酸损伤组(Glu)和人参皂甙 Rd 预处理组(Rd)。Control 组细胞正常培养;Glu 组细胞暴露于含 10 mM 谷氨酸的 DMEM 培养基中损伤 24 h;Rd 组细胞经 50 μ M 的人参皂甙 Rd 预处理 30 min 后,在谷氨酸浓度为 10 mM 的 DMEM 培养基中损伤 24 h。采用 MTT 检测细胞活力和乳酸脱氢酶(LDH)检测试剂盒检测 LDH 释放量;流式细胞仪检测胞内活性氧(ROS)水平;Western blot 检测还原型谷胱甘肽蛋白(GSH)表达;专用试剂盒检测细胞内过氧化氢酶(CAT)和超氧化物歧化酶(SOD)含量,相差显微镜观测细胞形态。结果:50 μ M 的人参皂甙 Rd 预处理 30 min,可明显提高谷氨酸诱导的 PC12 细胞的活力,降低其 LDH 释放量、胞内 ROS 含量,并提高胞内 GSH 蛋白表达,增加 CAT、SOD 含量并改善细胞形态。结论:人参皂甙 Rd 预处理可减轻谷氨酸引起的 PC12 细胞损伤。

关键词:人参皂甙 Rd;预处理;谷氨酸;氧化应激;PC12 细胞

中图分类号:Q291 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-6273(2014)30-5806-04

Ginsenoside Rd Preconditioning Attenuates Glutamate-induced Injury in PC12 Cells*

LI Nan, SHI Yong-qiang, GAO Lu, ZHANG Gang, MI Wei-yang, SHI Hang-yu[△]

(Department of Neurosurgery, Xi'an Children's Hospital, Xi'an, Shaanxi, 710003, China)

ABSTRACT Objective: To investigate the protection of ginsenoside Rd on the glutamate-induced injury of PC12 cells. **Methods:** PC12 cells were assigned into three groups, including control group (Control), glutamate exposure group (Glu) and ginsenoside Rd preconditioning group (Rd). The cells of control were cultured in drug-free medium; the cells of Glu were exposed to 10 mM glutamate dissolved the DMEM medium for 24 h; the cells of Rd group were pretreated with 50 μ M ginsenoside Rd for 30 min, and then exposed to 10 mM glutamate for 24 h. MTT method was used to determine the cell viability; LDH release was assessed by a reagent kit; flow cytometry was taken to assess the intracellular reagent oxygen species (ROS) level; intracellular glutathione protein expression was determined by western blot; superoxide dismutase (SOD) and catalase (CAT) reagent kits were used to determine the intracellular SOD and CAT levels; the phase contrast microscope was taken to investigate the morphology of PC12 cells. **Results:** Ginsenoside Rd increased the cell viability markedly, decreased LDH release, reduced the intracellular ROS level, increased intracellular GSH expression, SOD and CAT levels. In addition, the ginsenoside Rd ameliorated the morphology of PC12 cells exposed to glutamate. **Conclusion:** Ginsenoside Rd pretreatment ameliorates glutamate-induced injury of PC12 cells.

Key words: Ginsenoside Rd; Preconditioning; Glutamate; Oxidative stress; PC12 cells

Chinese Library Classification(CLC): Q291 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2014)30-5806-04

前言

高浓度谷氨酸可引起神经元兴奋性损伤,是脑缺血再灌注的重要损伤机制之一。脑缺血发生后,缺血神经元大量释放谷氨酸至神经突触间隙,进而导致突触间隙的谷氨酸含量异常升高,最终产生神经元发生异常兴奋和氧化应激损伤^[1]。因此,降低谷氨酸引起的神经元兴奋性损伤可有效降低脑缺血的危害。人参皂甙 Rd(ginsenoside Rd)是从中药人参或三七中提取出的

生物活性物质^[2]。研究发现,人参皂甙 Rd 可减少大鼠皮层的神经元凋亡^[3]。细胞实验表明,人参皂甙 Rd 可减轻海马神经元的氧糖剥夺损伤,产生神经保护作用^[4]。但人参皂甙 Rd 的神经保护机制至今尚不清楚。预处理是指在组织或器官发生致死性损伤前,给予其亚致死剂量的刺激,可减轻随后的致死性剂量损伤的损伤程度的现象^[5]。PC12 细胞是一种大鼠嗜铬细胞瘤细胞系,被广泛应用于体外模拟神经元的试验^[6]。本研究拟采用谷氨酸损伤 PC12 细胞模拟神经元的兴奋性损伤,观察人参皂甙

* 基金项目:国家自然科学基金项目(81341016)

作者简介:李楠(1981-),男,博士生,主治医师,主要研究方向:胶质瘤的治疗,

电话:18991235903, E-mail:38434313@qq.com

[△] 通讯作者:史航宇,副主任医师, E-mail:shihangyu723@aliyun.com

(收稿日期:2014-03-17 接受日期:2014-04-15)

RD 与处理对谷氨酸诱导的 PC12 细胞损伤的保护效果,并探讨其可能的机制。

1 材料与方法

1.1 细胞培养

PC12 细胞由中科院上海生命科学研究所赠予。细胞培养基采用高糖型 DMEM 培养基(Gibco, USA),含 10%胎牛血清(Gibco, USA)和 1%青链霉素混合溶液(北京索莱宝,中国)。细胞培养在 37℃ 细胞培养箱中,箱内气体含 95%空气和 5% CO₂。

1.2 分组与处理

将 PC12 细胞分为 3 组,分别为对照组(Control)、10 mM 谷氨酸损伤 24 h 组 (Glu)、50 μM 的人参皂甙 RD 预处理组(Rd)。Control 组细胞在正常培养基中培养;Glu 组细胞在谷氨酸浓度为 10 mM 的 DMEM 培养基中暴露 24 h;人参皂甙 Rd 预处理组将 PC12 细胞暴露于 50 μM 的人参皂甙 RD 中预处理 30 min 后,再暴露于含谷氨酸浓度为 10 mM 的 DMEM 中损伤 24 h,随后进行检测。

1.3 细胞活力检测

细胞活力检测采用噻唑蓝(MTT)法。将细胞种植于 96 孔板,处理完毕后,每孔加 MTT 溶液(5 mg/ml)20 μL,混匀,在 37℃ 细胞培养箱中孵育,4 h 后,小心吸去上层培养基,每孔加 150 μL 二甲基亚砜,混匀后在 492 nm 波长下测各孔吸光度。

1.4 LDH 释放检测

LDH 释放量检测采用 LDH 检测试剂盒(南京建成生物工程研究所,中国)进行检测。取各处理组待测细胞培养上清液 20 μL,采用比色法,按试剂盒检测说明进行检测。

1.5 细胞内 ROS 含量检测

将细胞接种于 24 孔板上,密度为 10⁶ 个/孔,处理完毕后,将待测细胞在含有异硫氰酸荧光素(fluorescein isothiocyanate, FITC)的无血清培养基中 37℃ 孵育 30 min 后,用无血清培养基清洗 3 次,每次清洗 5 min,清洗完毕后,每孔加入无血清 DMEM 培养基 1 mL,采用荧光显微镜(Nikon,日本)随机选取视野并拍照。随后用胰酶将细胞消化并制成细胞混悬液,使细胞密度大于 10⁶ 个/mL,用流式细胞仪检测各组细胞荧光强度。

1.6 Western blot 检测 GSH 的表达

将细胞接种于 6 孔培养板上,密度为 5×10⁶ 个/孔,处理完毕后,每孔细胞加入 500 μL 细胞裂解液,5 min 后,将细胞用细胞刮收集至离心管,4℃ 离心后,收集上清蛋白溶液,定量后用于检测。蛋白质经聚丙烯酰胺凝胶电泳后,转移至聚偏氟乙烯(polyvinylidene fluoride, PVDF)膜上。5%脱脂奶粉封闭,4℃ 过夜,加入 1:500 稀释的兔抗大鼠 GSH 一抗,37℃ 孵育 4 h,再加上山羊抗兔二抗 4℃ 过夜,化学发光法显色,凝胶成像系统(Bio-Rad 公司,美国)进行图像分析。应用 β 肌动蛋白(β-Actin)作为内参。

1.7 细胞内 SOD 和 CAT 含量的检测

细胞内 SOD 和 CAT 含量的检测采用相应检测试剂盒(南京建成生物工程研究所,中国)进行检测。将接种于 6 孔细胞培养板的细胞处理完毕后,使用细胞裂解液在 4℃ 裂解细胞 5 min,随后使用细胞刮将细胞和培养板内液体收集并在 1500

rpm 转速离心 10 min,取裂解液离心后上清进行细胞 SOD 和 CAT 含量检测,具体方法按照试剂盒说明进行。

1.8 细胞形态的观察

将处理完毕的细胞在相差显微镜下随机选取视野进行观测,并在 10×40 倍镜下拍照。

1.9 统计学方法

采用 SPSS15.0 进行分析,实验数据采用均数±标准差 (Means±SD)表示,使用单因素方差分析(one-way ANOVA)进行组间差异性检验,两组间的比较采用 SNK-q 检验,以 P<0.05 表示组间存在统计学差异性。

2 结果

2.1 不同浓度人参皂甙 Rd 预处理对谷氨酸诱导的 PC12 细胞活力的影响

采用不同浓度 (0、5、50 和 500 μM) 人参皂甙 Rd 预处理 PC12 细胞 30 min 后,分别在正常培养基或含 10 mM 的谷氨酸中培养 24 h。如图 1A 所示,仅用 10 mM 处理的 PC12 细胞的活力显著低于正常对照组,而不同浓度(5、50 和 500 μM)人参皂甙 Rd 预处理后的 PC12 细胞活力较未经人参皂甙 Rd 预处理的 PC12 显著升高。其中,50 μM 的人参皂甙 Rd 预处理可产生最好保护作用,与 Glu 组(55.2±4.0%)相比,其细胞活力升高至 81.6±1.7%(P<0.05),故以下实验选取 50 μM 为最佳人参皂甙 Rd 预处理的浓度。

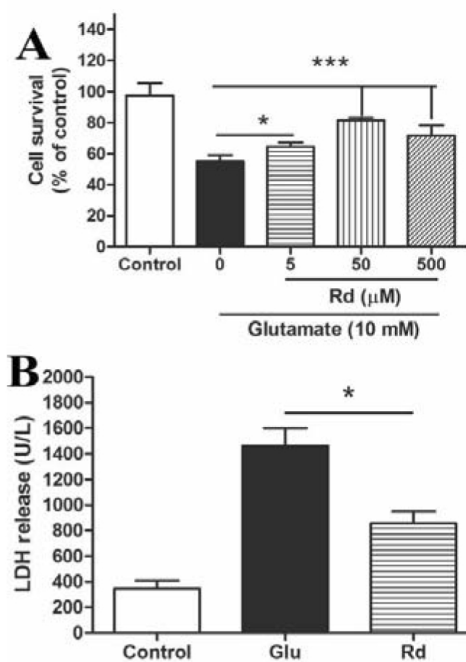


图1 人参皂甙 Rd 预处理对谷氨酸诱导的 PC12 细胞活力、LDH 释放的影响。A: 人参皂甙 Rd 预处理可抑制谷氨酸诱导的 PC12 细胞活力的下降; B: 人参皂甙 Rd 预处理可降低谷氨酸诱导的 PC12 细胞中 LDH 释放的增加

Note: *, P<0.05 vs. Glu; ***, P<0.001 vs. Glu, n=10.

Fig.1 Effect of Ginsenoside Rd preconditioning on the cell viability and LDH release in PC12 cells induced by glutamate. A: Ginsenoside Rd preconditioning inhibited the decrease of cell viability in PC12 cells induced by glutamate; B: Ginsenoside Rd preconditioning decreased the increase of LDH release in PC12 cells induced by glutamate

2.2 人参皂甙 Rd 预处理对谷氨酸诱导的 PC12 细胞 LDH 释放量的影响

LDH 是一种细胞内酶,在细胞发生损伤或死亡时,细胞内 LDH 可释放至培养基内,导致培养基 LDH 含量升高。LDH 释放量常用来反映细胞的损伤水平^[7]。如图 1B 所示, Glu 组的 LDH 释放量为 1461.0 ± 138.1 U/L,较正常对照组显著升高,而 Rd 组 LDH 释放量降至 (857.4 ± 93.6) U/L,显著低于 Glu 组,表明人参皂甙 Rd 预处理可显著降低 LDH 释放。

2.3 人参皂甙 Rd 预处理对谷氨酸诱导的 PC12 细胞内 ROS 水

平的影响

细胞发生氧化应激损伤时,胞内 ROS 含量显著增加,胞内过量的 ROS 可对细胞膜和线粒体造成氧化应激损伤,进而引起细胞发生凋亡^[8]。本研究结果显示(图 2), 10 mM 的谷氨酸作用 PC12 细胞 24 h,细胞内 ROS 的含量(354.7 ± 48.1 %)较正常对照组显著增加,50 μ M 的人参皂甙 Rd 预处理 PC12 细胞 30 min,可明显降低谷氨酸诱导的细胞内的 ROS 含量 (190.2 ± 24.1 %, $P < 0.05$)。

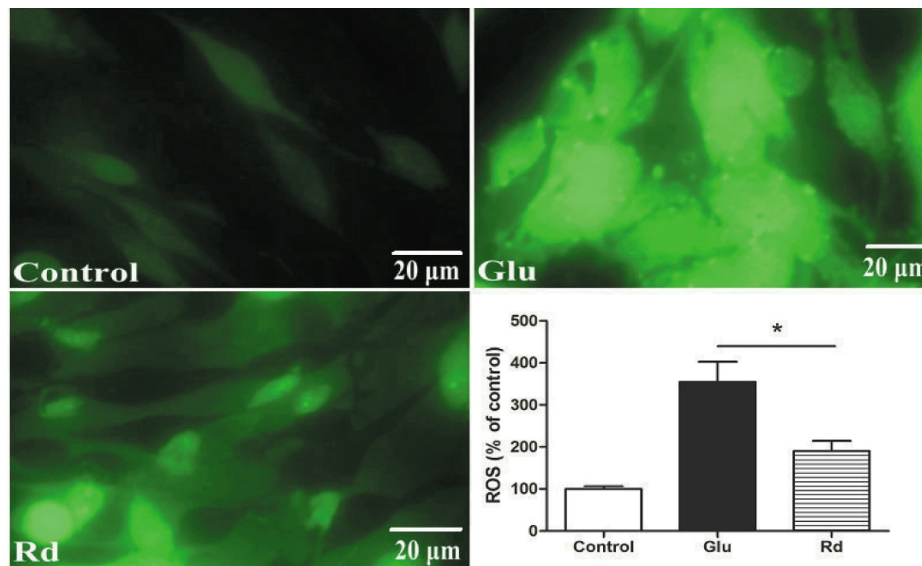


图 2 人参皂甙 Rd 预处理可显著减少谷氨酸诱导的 PC12 细胞内 ROS 含量

Fig.2 Ginsenoside Rd preconditioning significantly decreased the intracellular ROS level in PC12 cells induced by glutamate

注: *: $P < 0.05$ vs. Glu, $n = 8$ 。

Note: *: $P < 0.05$ vs. Glu, $n = 8$ 。

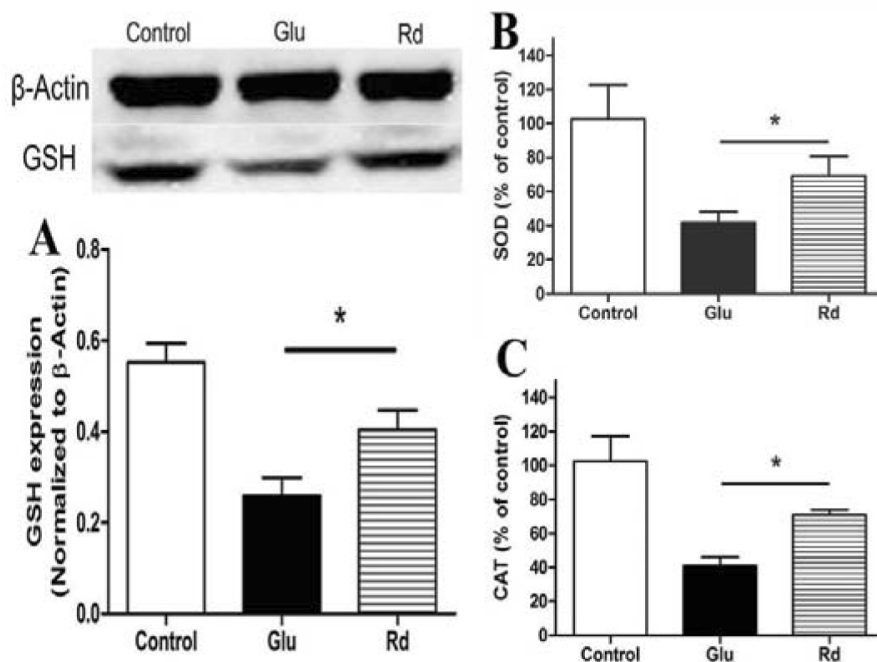


图 3 人参皂甙 Rd 预处理可增加 PC12 细胞内 GSH 表达、SOD 和 CAT 含量。A: GSH 表达; B: 胞内 SOD 水平; C: 胞内 CAT 水平

Fig.3 Ginsenoside Rd preconditioning increased GSH expression, intracellular SOD and CAT levels. A: GSH expression; B: intracellular SOD level;

C: intracellular CAT level

注: *: $P < 0.05$ vs. Glu, $n = 6$ 。

Note: *: $P < 0.05$ vs. Glu, $n = 6$ 。

2.4 人参皂甙 Rd 预处理对谷氨酸诱导的 PC12 细胞内 GSH 蛋白表达、SOD 和 CAT 含量的影响

细胞内抗氧化物 GSH、SOD 和 CAT 可维持细胞处于还原状态,减轻氧化应激对细胞的损伤。本研究结果显示:10 mM 的谷氨酸可降低 PC12 细胞内 GSH 水平至 0.26 ± 0.04 (图 3A), 50 μ M 人参皂甙 Rd 显著增加 GSH 表达水平至 0.41 ± 0.04 ($P < 0.05$)。10 mM 的谷氨酸作用 PC12 细胞 24 h, 可将细胞内 SOD 含量降至 $(41.9 \pm 6.3 \%)$, 人参皂甙 Rd 预处理 PC12 细胞 30 min (图 3B), 可明显升高细胞内 SOD 含量 $(69.5 \pm 11.2 \%, P < 0.05)$ 。Glu 可降低 PC12 细胞 CAT 至 $41.0 \pm 5.1 \%$ (图 3C), 人参皂甙 Rd 可明显升高 PC12 细胞内 CAT 水平至 ($P < 0.05$)。

2.5 人参皂甙 Rd 预处理对谷氨酸诱导的 PC12 细胞形态的影响

正常 PC12 细胞有神经元样突触,呈梭形。10 mM 谷氨酸作用于 PC12 细胞 24 h, 可使细胞形态变为圆形,仅少量细胞有神经元样突触,50 μ M 的人参皂甙 Rd 预处理 PC12 细胞 30 min, 可明显改善 PC12 细胞形态,有神经元样突触细胞数量明显增多,如图 4。

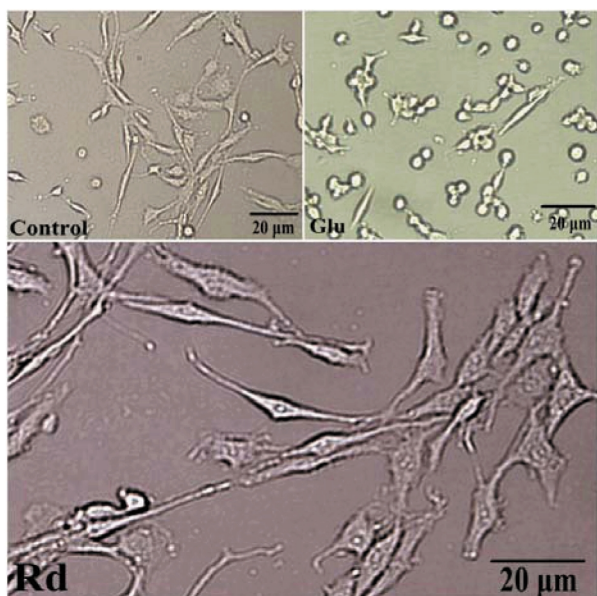


图 4 人参皂甙 Rd 预处理可改善 PC12 细胞形态

Fig.4 Ginsenoside Rd preconditioning ameliorated the morphology of PC12 cells

3 讨论

缺血性脑中风发生后,缺血神经元细胞可释放大谷氨酸至神经突触间隙,可发生谷氨酸大量聚集,而高浓度谷氨酸可造成神经细胞发生过度兴奋并造成氧化应激损伤^[9]。研究发现,位于突触间隙的谷氨酸含量大量聚集后,可激活神经元细胞上的 N-甲基-D-天冬氨酸 (NMDA, N-methyl-D-aspartic acid) 受体^[10],进而引起神经元细胞发生钙离子内流,而神经原细胞内高浓度的钙离子可引起神经元细胞发生凋亡。此外,神经元细胞上的谷氨酸转运体可将胞外谷氨酸转运至细胞内,细胞内的谷氨酸含量上升可大量消耗细胞内的 SOD 等还原性酶类^[11]。与此同时,可随之在胞内产生大量 ROS^[12],胞内过量的 ROS 可

对线粒体呼吸链造成损伤,使神经细胞能量供给发生障碍,进而可引起神经细胞发生死亡。因此,如何维持神经细胞内的还原/氧化平衡,对细胞对抗氧化应激损伤具有至关重要的作用。

缺血预处理的保护作用最早是由 Murry 等在研究狗的心肌缺血损伤时发现^[9],他们发现预先给予狗心脏一定时间的缺血,可明显降低随后缺血对心肌的损伤。此后,逐步从心脏发展到其他脏器(如脑)的缺血预处理。除了缺血预处理,各种类型的药物与处理也逐渐得到了日益深入的研究^[13,14]。这些研究有效避免或减轻了缺血预处理的潜在缺血性损伤风险,临床应用前景更加广阔。人参皂甙 Rd 是中药人参和三七的重要生物活性成分之一。研究发现,人参皂甙 Rd 可显著减轻大鼠脑缺血损伤,其机制可能与降低神经细胞内 ROS 含量、抑制细胞色素 C 生成和保护线粒体损伤有关^[2]。此外, Ye 等研究发现人参皂甙 Rd 可减轻氧糖剥夺和双氧水对神经元细胞的氧化损伤^[15,12],还有研究显示人参皂甙 Rd 可减轻谷氨酸引起的皮层神经元细胞凋亡^[3]。亦有研究表明人参皂甙 Rd 产生的神经保护作用可能与抑制脑缺血发生后的中枢神经系统炎症有关^[16]。除神经保护作用外,人参皂甙 Rd 还有抗炎、抗肿瘤和抗辐射等多种生物学效应,但其作用机制较复杂,作用靶点尚待阐明^[17]。

本研究结果显示:50 μ M 的人参皂甙 Rd 预处理 PC12 细胞 30 min,可明显减轻 10 mM 谷氨酸引起的 PC12 细胞活力下降、降低胞外 LDH 含量、降低胞内 ROS 水平、提升胞内 GSH 蛋白表达水平、SOD 和 CAT 含量,并改善 PC12 细胞形态。这些结果表明人参皂甙 Rd 预处理可显著降低谷氨酸所致 PC12 细胞的氧化应激损伤,可能通过增加 PC12 细胞内抗氧化物质含量,减轻氧化应激损伤,进而产生神经保护作用,其确切的保护作用机制还有待于进一步的研究。

参考文献(References)

- [1] Zhang F, Guo A, Liu C, et al. Phosphorylation and assembly of glutamate receptors after brain ischemia [J]. Stroke, 2013, 44(1): 170-176
- [2] Ye R, Zhang X, Kong X, et al. Ginsenoside Rd attenuates mitochondrial dysfunction and sequential apoptosis after transient focal ischemia [J]. Neuroscience, 2011, 178: 169-180
- [3] Li XY, Liang J, Tang YB, et al. Ginsenoside Rd prevents glutamate-induced apoptosis in rat cortical neurons [J]. Clin Exp Pharmacol Physiol, 2010, 37(2): 199-204
- [4] Ye R, Li N, Han J, et al. Neuroprotective effects of ginsenoside Rd against oxygen-glucose deprivation in cultured hippocampal neurons [J]. Neurosci Res, 2009, 64(3): 306-310
- [5] Murry CE, Jennings RB, Reimer KA. Preconditioning with ischemia: a delay of lethal cell injury in ischemic myocardium [J]. Circulation, 1986, 74(5): 1124-1136
- [6] Yang X, Liu Y, Liu C, et al. Inhibition of ROCK2 expression protects against methamphetamine-induced neurotoxicity in PC12 cells [J]. Brain Res, 2013, 1533: 16-25
- [7] Wu FJ, Xue Y, Tang QJ, et al. The protective effects of cerebrosides from sea cucumber and starfish on the oxidative damage in PC12 cells [J]. J Oleo Sci, 2013, 62(9): 717-727

(下转第 5910 页)

- (9): 691-695
- [9] 王富贵, 邵永聪, 齐建林, 等. 睡眠剥夺对青年男性执行能力的影响[J]. 中国心理卫生杂志, 2010, 24(7): 541-545
Wang Fu-gui, Shao Yong-cong, Qi Jian-lin, et al. Effects of total sleep deprivation on executive function in young men [J]. Chinese Mental Health Journal, 2010, 24(7): 541-545
- [10] 李兴旺, 钱效森, 刘毅, 等. 呼吸睡眠暂停低通气综合征对飞行员驾驶能力的影响探讨[J]. 实用心脑血管病杂志, 2012, 20(1): 39-41
Li Xing-wang, Qian Xiao-sen, Liu Yi, et al. Effect from sleep apnea hypotension syndrome to driving ability of pilots[J]. Practical Journal of Cardiac Cerebral Pneumal and Vascular Disease, 2012, 20(1): 39-41
- [11] 张宏金, 杨军, 俞梦孙, 等. 飞行人员常见睡眠障碍的类型、影响及对策[J]. 中华航空航天医学杂志, 2002, 13(4): 267-270
Zhang Hong-jin, Yang Jun, Yu Meng-sun, et al. Common sleep disorders in flight crew: their effects and countermeasures [J]. Chinese Journal of Aerospace Medicine, 2002, 13(4): 267-270
- [12] 景百胜, 詹皓, 李砚峰, 等. 三唑仑和佐匹克隆对模拟飞行工作能力的影响[J]. 航天医学与医学工程, 2003, 16(5): 329-331
Jing Bai-sheng, Zhan Hao, Li Yan-feng, et al. Effects of short-action hypnotics triazolam and zopiclone on simulated flight performance [J]. Space Medicine and Medical Engineering, 2003, 16(5): 329-331
- [13] 王健, 赵德恒, 杨焕. 介绍欧洲药品管理局治疗失眠药物临床试验指导原则及在特殊人群的研究要求 [J]. 中国临床药理学杂志, 2011, 27(10): 806-808
Wang Jian, Zhao De-heng, Yang Huan, et al. Introduction on the clinical guideline of investigation medicinal products for insomnia and study requirement in special people by European Medicine Agency [J]. The Chinese Journal of Clinical Pharmacology, 2011, 27(10): 806-808
- [14] 张娴, 邹豪, 高申. 用于战时调节飞行人员睡眠与抗疲劳的精神类药物[J]. 第二军医大学学报, 2008, 29(7): 841-844
Zhang Xian, Zou Hao, Gao Shen. Psychotropic drugs for sleep regulation and anti-fatigue in aircrew members during wartime[J]. Academic Journal of Second Military Medical University, 2008, 29(7): 841-844
- [15] 李宏, 高炎, 马世红, 等. 舒眠胶囊联合黛力新治疗原发性失眠疗效观察[J]. 浙江临床医学, 2011, 13(7): 758-760
Li Hong, Gao Yan, Ma Shi-hong, et al. To Observe the Shumian capsule combined with Diane force in treating primary insomnia [J]. Zhejiang Clinical Medical Journal, 2011, 13(7): 758-760
- [16] Michel Jouvret MD. Sleep and serotonin :an unfinished story[J]. Neuropsychopharmacology, 1999, 21(2): 24-27
- [17] 程少冰, 张毅敏, 唐纯志, 等. 针刺对不同时段睡眠剥夺大鼠模型行为学及 TNF- α 含量的影响 [J]. 中国老年学杂志, 2012, 32(1): 77-79
Chen Shao-bing, Zhang Yi-min, Tang Chun-zhi, et al. Research of behavior change and TNF- α content about acupuncture on rat model of sleep deprivation in different periods[J]. Chinese Journal of Gerontology, 2012, 32(1): 77-79
- [18] 陈喜林, 赵春华, 肖支仁, 等. 飞行人员失眠症与心理干预的相关问题分析[J]. 中国疗养医学, 2011, 20(6): 534-535
Chen Xi-lin, Zhao Chun-hua, Xiao Zhi-ren, et al. The analysis between pilots with chronic insomnia and mental intervention[J]. Chinese Journal of Convalescent Medicine, 2011, 20(6): 534-535
- [19] 赵春华, 张艺军, 陈英俊. 生物反馈疗法对飞行人员失眠症的疗效观察[J]. 临床军医杂志, 2009, 37(1): 93-94
Zhao Chun-hua, Zhang Yi-jun, Chen Ying-jun. The efficacy of biofeedback therapy in treatment of pilots with chronic insomnia[J]. Clinical Journal of Medical Officer, 2009, 37(1): 93-94
- [20] 阮经文, 廖新学, 严英硕. 针灸治疗慢性失眠的时效性与量效性临床研究[J]. 中山大学学报, 2008, 29(4): 448-452
Ruan Jing-wen, Liao Xin-xue, Yan Ying-suo, et al. Clinical analysis of chronergy and quantitative efficacy of acupuncture in treating chronic insomnia [J]. Journal of Sun Yat-sen University, 2008, 29(4): 448-452
- [8] Ciofani G, Genchi GG, Mazzolai B, et al. Transcriptional profile of genes involved in oxidative stress and antioxidant defense in PC12 cells following treatment with cerium oxide nanoparticles [J]. Biochim Biophys Acta, 2014, 1840(1): 495-506
- [9] Talha S, Bouitbir J, Charles AL, et al. Pretreatment with brain natriuretic peptide reduces skeletal muscle mitochondrial dysfunction and oxidative stress after ischemia-reperfusion [J]. J Appl Physiol, 2013, 114(2): 172-179
- [10] Heurteaux C, Lauritzen I, Widmann C, et al. Glutamate-induced overexpression of NMDA receptor messenger RNAs and protein triggered by activation of AMPA/kainate receptors in rat hippocampus following forebrain ischemia [J]. Brain Res, 1994, 659(1-2): 67-74
- [11] Wang Z, Liu D, Gu H, et al. NTA-modified carbon electrode as a general relaying substrate to facilitate electron transfer of SOD: application to in vivo monitoring of O₂(-) in a rat brain [J]. Biosens Bioelectron, 2013, 43: 101-107
- [12] Ye R, Li N, Han J, et al. Neuroprotective effects of ginsenoside Rd against oxygen-glucose deprivation in cultured hippocampal neurons [J]. Neurosci Res, 2009, 64(3): 306-310
- [13] Li WC, Jiang DM, Hu N, et al. Lipopolysaccharide preconditioning attenuates neuroapoptosis and improves functional recovery through activation of Nrf2 in traumatic spinal cord injury rats [J]. Int J Neurosci, 2013, 123(4): 240-247
- [14] Sun W, Pei L. Ozone preconditioning and exposure to ketamine attenuates hepatic inflammation in septic rats [J]. Arch Med Sci, 2012, 8(5): 918-923
- [15] Ye R, Han J, Kong X, et al. Protective effects of ginsenoside Rd on PC12 cells against hydrogen peroxide [J]. Biol Pharm Bull, 2008, 31(10): 1923-1927
- [16] Hu G, Wu Z, Yang F, et al. Ginsenoside Rd blocks AIF mitochondrio-nuclear translocation and NF- κ B nuclear accumulation by inhibiting poly (ADP-ribose) polymerase-1 after focal cerebral ischemia in rats [J]. Neurol Sci, 2013, 34(12): 2101-2106
- [17] 周超群, 周佩. 人参皂苷 Rd 的研究进展 [J]. 中草药, 2009, 40(5): 832-836
Zhou Chao-qun, Zhou Pei. Advances in studies on ginsenoside Rd [J]. Chinese Traditional and Herbal Drugs, 2009, 40(5): 832-836

(上接第 5809 页)